

学校编码: 10384

密级_____

学号: 24520121153106

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

靶序列捕获技术检测激素耐药型肾病综合征致病基因

Targeted next generation sequencing for detecting causative
genes of steroid-resistant nephrotic syndrome

丁晓华

指导教师姓名: 余自华

专 业 名 称: 儿科学

论文提交日期: 2015 年 4 月

论文答辩日期: 2015 年 5 月

2015 年 5 月

靶序列捕获技术检测激素耐药型肾病综合征致病基因

丁晓华

指导教师

余自华
教授

厦门大学

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为(厦门大学东方医院儿科)课题(组)的研究成果,获得(余自华)课题(组)经费或实验室的资助,在(儿科研究室)实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

（ ） 1.经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

（ ） 2.不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

缩略词

NS	nephrotic syndrome	肾病综合征
PNS	primary nephrotic syndrome	原发性肾病综合征
SRNS	steroid-resistant nephrotic syndrome	激素耐药型肾病综合征
SSNS	steroid-sensitive nephrotic syndrome	激素敏感型肾病综合征
ESRD	end-stage renal disease	终末期肾脏疾病
DDS	Denys–Drash syndrome	Denys–Drash 综合征
FS	Frasier syndrome	Frasier 综合征
ISRNS	Isolated steroid-resistant nephrotic syndrome	孤立性激素耐药型肾病综合征
FSGS	focal segmental glomerulosclerosis	局灶节段性肾小球硬化
MPGN	membranoproliferative glomerulonephritis Type	膜增殖型肾小球肾炎
MCNS	minimal change nephrosis	微小病变型肾病
MN	membranous nephropathy	膜性肾病
DMS	diffuse mesangial sclerosis	弥漫性系膜硬化
MsPGN	Mesangial proloferative glomerulonephritis	系膜增生性肾小球肾炎
AR	autosomal recessive inheritance	常染色体隐性遗传
AD	autosomal dominant inheritance	常染色体显性性遗传
XLR	X-linked recessive inheritance	X 连锁隐性遗传
PCR	polymerase chain reaction	聚合酶链式反应
NCBI	National Center for Biotechnology Information	(美国) 国立生物技术信息中心

摘要

肾病综合征（nephrotic syndrome, NS）主要临床表现是大量蛋白尿、低白蛋白血症、高脂血症和不同程度的水肿。根据对糖皮质激素治疗的反应，原发性 NS 分为激素敏感型 NS（steroid-sensitive nephrotic syndrome, SSNS）和激素耐药型 NS（steroid-resistant nephrotic syndrome, SRNS）两种类型。SRNS 预后不佳，会逐渐进展至终末期肾脏疾病（end-stage renal disease, ESRD），需要透析和肾移植治疗。SRNS 的病因和发病机制一直未被阐明。目前对其遗传机制研究较多，相继发现人类常染色体上有 40 多种单基因突变与 SRNS 有关。传统 Sanger 测序费时费力成本高。故对于原因不明的 SRNS，需要进行高通量测序。前期，我们已经对 3 个家族性 SRNS 先证者筛查了 *NPHS1*、*NPHS2*、*MYO1E*、*CD2AP*、*WT1* 和 *PLCE1* 基因，但病因仍不明确。

我们应用 Agilent Haloplex 对 29 个 SRNS 致病基因设计探针，将探针与构建的文库杂交，用 Illumina HiSeq 技术平台进行高通量靶序列捕获测序，测序数据经生物信息学分析，对基因突变进行筛选和解释，应用 PCR 扩增及 Sanger 测序法来验证相关致病基因突变，对突变的致病性进行分析。

发现家系 A 先证者存在 *ARHGAP24* 基因 G1161A 杂合突变和 *E2F3* 基因 G847T 杂合突变，家系 B 先证者存在 *NPHS1* 基因 C2398T 杂合突变（前期已报道），家系 C 先证者存在 *PMM2* 基因 C508G 杂合突变。

ARHGAP24、*E2F3*、*NPHS1*、*PMM2* 等 29 个 SRNS 致病基因不是本研究 3 个 SRNS 家系的主要病因。

关键词：激素耐药型肾病综合征；基因突变；诊断；靶序列捕获

Abstract

Nephrotic syndrome (NS), the association of gross proteinuria, hypoalbuminemia, hyperlipidemia, and edema, is clinically divided into steroid-resistant nephrotic syndrome (SRNS) and steroid sensitive nephrotic syndrome (SSNS) by its response to a standardized steroid therapy. SRNS can regularly progress to end-stage renal disease (ESRD), needing dialysis and kidney transplantation. Its etiology and pathogenesis have been a conundrum for decades. However, discovery of more than 40 genes that, if mutated, cause SRNS has recently provided basic insights into mechanism of this disease. Traditional Sanger sequencing is not a high-throughput, low-cost strategy. So we use targeted next generation sequencing to detect the mutations in the genes associated with SRNS.

The clinical data and the whole blood from 3 proband in three Chinese families with SRNS were collected. The genomic DNA was extracted and whole DNA library was prepared. The exomes of 29 SRNS-related genes were captured by Illumina HiSeq capture technique and sequenced. The mutations were validated by Sanger sequencing. The functional significance was also investigated in functional computational prediction methods at last. The prior study from our laboratory showed that *NPHS1*, *NPHS2*, *MYO1E*, *CD2AP*, *WT1* and *PLCE1* genes are not the major cause of Chinese familial SRNS in this study.

We detected both a heterozygous mutation G1161A in the *ARHGAP24* gene and a heterozygous mutation G847T in the *E2F3* gene in the proband from the family A with SRNS. We also found a heterozygous mutation C2398T in the *NPHS1* gene in the proband from the family B, which has been reported, and a heterozygous mutation C508G in the *PMM2* gene in the proband from the family C.

After functional analysis, we conclude that the 29 genes associated with SRNS, including *ARHGAP24*, *E2F3*, *NPHS1* and *PMM2*, are not the major cause of Chinese familial SRNS in this study.

Key words: steroid-resistant nephrotic syndrome; gene mutation; diagnosis; target next generation sequencing

目 录

缩略词.....	I
中文摘要.....	II
英文摘要.....	III
第 1 章 前言	1
第 2 章 试验材料和方法.....	18
第 3 章 结果	40
第 4 章 讨论	60
第 5 章 结论	65
参考文献	66
致谢	77

Contents

Abbreviations	I
Abstract in Chinese.....	II
Abstract in English	III
Chapter 1 Introduction.....	1
Chapter 2 Material and method.....	18
Chapter 3 Result	40
Chapter 4 Discussion	60
Chapter 5 Conclusion	65
Reference	66
Acknowledgment	77

第 1 章 前言

肾病综合征 (nephrotic syndrome, NS) 是儿童期常见的肾小球疾病, 是一种具有遗传异质性的疾病, 其主要临床表现是大量蛋白尿、低白蛋白血症、高脂血症和不同程度的水肿^[1, 2]。根据病因, NS 可分为原发性 NS (primary nephrotic syndrome, PNS)、继发性 NS 和先天性 NS (congenital nephrotic syndrome, CNS) 三种类型。根据患儿对糖皮质激素的疗效, PNS 分为激素敏感型 NS (steroid-sensitive nephrotic syndrome, SSNS) 和激素耐药型 NS (steroid-resistant nephrotic syndrome, SRNS) 两种类型^[3]。SRNS 预后不佳, 经治疗后若无法部分或完全缓解, 约 50% 的风险在 5 年内逐渐进展至终末期肾脏疾病 (end-stage renal disease, ESRD) ^[4]。

SRNS 的发病机制分两种: 部分为 T 细胞功能紊乱所致; 另一部分为肾小球滤过屏障原发缺陷所致^[5]。目前对其分子遗传机制研究较多, 遗传因素引起的肾小球滤过屏障原发性缺陷在 SRNS 发病机制中的地位越来越受到重视^[6]。自 Kestila 等^[5]克隆 *NPHS1* 基因以来, 相继发现人类有 49 种单基因突变与 SRNS 相关^[7], 其中核基因有 45 个, 这些核基因中可以导致孤立性 SRNS 的有 22 个: *NPHS1*、*NPHS2*、*CD2AP*、*PLCε1*、*TRPC6*、*PTPRO*、*PAX2*、*ACTN4*、*MYH9*、*SYNPO*、*APOL1*、*MYO1E*、*ARHGAP24*、*ARHGDIA*、*ANLN*、*EMP2*、*GPC5*、*PODXL*、*TTC21B*、*ADCK4*、*CYP11B2* 和 *CLTA4*, 其余 23 个导致综合征型 SRNS: *WT1*、*LMX1B*、*SMARCA1*、*E2F3*、*NXF5*、*WAR73*、*INF2*、*CUBN*、*LAMB2*、*ITGB4*、*ITGA3*、*LMNA*、*COL4A3*、*COL4A4*、*COL4A5*、*CD151*、*SCARB2*、*PMM2*、*ALG1*、*COQ2*、*COQ6*、*ZMPSTE24* 和 *PDSS2*。线粒体基因 4 个: *MTTL1*、*tRNA^{Leu}*、*tRNA^{Asn}* 和 *tRNA^{Tyr}*。这些基因的位置、结构和功能及突变产生的疾病具体如下。

NPHS1 基因 (NG 013356.2) 定位于人类 19q13.1, 包含 29 个外显子, 其转录的 mRNA (NM 004646.3) 含有 5024 个核苷酸, 编码蛋白为 nephrin (NP 004637.1)。Nephrin 由 1241 个氨基酸组成, 定位于肾小球滤过屏障中足细胞的裂孔隔膜上, 在维持肾小球滤过屏障的功能中发挥着重要作用^[8]。*NPHS1* 基因突变导致芬兰型先天性肾病综合征 (congenital nephrotic syndrome of Finnish type,

CNF)，呈常染色体隐性遗传。CNF 早在新生儿时期即表现为蛋白尿，并迅速进展至肾衰竭^[9, 10]。肾脏病理示远端小管囊状改变、广泛的足突融合消失和进行性肾小球硬化。随后的研究发现 *NPHS1* 基因突变还能导致非 CNF、儿童期 SRNS 和成人期 SRNS。

NPHS2 基因 (NG 007535.1) 位于人类 1 号染色体 q25-q31 上，共含 9 个外显子，其转录的 mRNA (NM 001297575.1) 含 1692 个核苷酸，编码的 podocin 蛋白 (NP 001244504.1) 由 383 个氨基酸组成。该蛋白是组成裂孔隔膜的主要蛋白之一，在维持肾小球滤过功能中发挥着重要的信号传导作用。*NPHS2* 基因突变会导致常染色体隐性遗传型 SRNS^[11]，该病发病年龄较早，临床蛋白尿、低蛋白血症表现较重，对糖皮质激素治疗抵抗，较快进展为 ESRD。肾脏病理以局灶节段性肾小球硬化 (focal segmental glomerulosclerosis, FSGS) 为主，还可表现为微小病变型肾病 (minimal change nephrosis, MCNS) 和弥漫性系膜硬化 (diffuse mesangial sclerosis, DMS)。 *NPHS2* 基因突变导致的 SRNS 初发不仅可以在儿童，还有在成人期的迟发病例。

CD2AP 基因 (NG 008878.1) 定位于人类 6p12.3 上，含有 18 个外显子，其转录的 mRNA (NM 012120.2) 含 5425 个核苷酸，编码蛋白的 CD2AP (NP 036252.1) 由 639 个氨基酸组成，该蛋白表达于全身各个组织，在肾脏表达于足细胞的裂孔隔膜上。CD2AP 作为一种衔接分子，不仅参与肾小管上皮细胞和足细胞的细胞信号转导，还参与足细胞骨架结构的调节，是足细胞损伤早期的重要标记分子^[12]。*CD2AP* 基因突变时，出现 CD2AP 分子缺乏或异常，导致足细胞出现细胞骨架重排，最终产生 SRNS，肾脏病理为 FSGS^[13-15]。其遗传方式不确定，可为常染色体显性遗传，也可为常染色体隐性遗传。在临床上主要表现为水肿和大量蛋白尿，无肾外表现。

PLCE1 基因 (NG 013356.2) 最早被 Hinkes 等^[16]证实，位于人类 10 号染色体 q23 上，含有 36 个外显子，全长 334.3kb，其转录的 mRNA (NM 001165979.2) 含 6516 个核苷酸，编码的 PLCE1 蛋白 (NP 00115945.1) 由 1994 个氨基酸组成。PLCE1 蛋白在成熟的肾小球足细胞上表达，具有催化多磷酸肌醇水解，产生第二信使的功能，如催化磷脂酰肌醇-4,5 二磷酸盐 (phosphatidylinositol-4, 5-bisphosphate, PIP2)，生成三磷酸肌醇 (inositol-1,4,5-triphosphate, IP3) 与二

脂酰甘油 (diacylglycerol, DAG), IP₃ 和 DAG 可引细胞内一连串的级联反应而使调节细胞生长与分化的相关基因表达。*PLCE1* 基因缺陷引起的 SRNS 患者在临床上表现为水肿和大量蛋白尿, 无肾外表现。遗传方式为染色体隐性遗传。因变异的类型不同, *PLCE1* 基因突变引起的表型可能不一致, 如携带 *PLCE1* 基因无义突变或者纯合移码突变的患者表现为早发性 SRNS, 最早可于 0.2 岁出现蛋白尿, 且大部分对糖皮质激素和其他免疫抑制剂耐药, 后可逐渐加重, 甚至进展至 ESRD, 临床肾脏病理表现为 DMS, 而携带纯合错义突变的患者则表现为迟发性 SRNS, 肾脏病理类型表现为 FSGS^[16-19]。

Winn 等^[20]最早发现了一个常染色体显性遗传的家族性 FSGS 存在着致病基因 *TRPC6* (NG 011476.1), 该基因定位于人类的 11q21-q21 上, 含有 13 个外显子, 其转录的 mRNA (NM 004621.5) 含 4612 个核苷酸, 编码的 TRPC6 蛋白 (NP 004612.2) 由 931 个氨基酸组成。TRPC6 蛋白是瞬时受体电位超家族中的一员, 组成细胞膜上钙离子通道活化受体, 该受体在多个组织器官系统中均有表达。已经证实 TRPC6 蛋白与遗传性肾病有关系, *TRPC6* 基因突变会导致裂孔隔膜结构和功能异常, 足细胞不能正常附着于基底膜, 出现蛋白尿, 直至肾衰^[21]。携带有 *TRPC6* 突变的患者发病年龄较晚。遗传方式均为常染色体显性遗传。临床主要表现为大量蛋白尿, 绝大部分患者在 10 年内进展为 ESRD, 肾脏病理表现为 FSGS。

PTPRO 基因 (NG 031857.1) 位于人类 12p12.3 上, 含有 26 个外显子, 其转录的 mRNA (NM 002848.3) 含 6295 个核苷酸, 编码的 PTPRO 蛋白 (NP 002839.1) 由 1188 个氨基酸组成。该蛋白是一种受体型蛋白酪氨酸磷酸酶-O, 表达于肾小球滤过屏障中足细胞膜的顶部, 参与细胞增殖、分化、代谢等重要生理过程, 调节肾小球压力和通透性^[22]。*PTPRO* 基因突变会引起弥漫性足突融合和广泛的基底膜变薄, 足细胞被吞噬和空泡化, 肾小球通透性增加, 出现蛋白尿, 导致儿童期 SRNS, 呈常染色体隐性遗传。肾脏病理学表现出广泛的足突融合消失、进行性肾小球硬化、过度的微绒毛转化和基底膜变薄的特征^[23]。

MYO1E 基因 (NG 007535.1) 位于人类 15 号染色体 p21-q22 上, 一共含有 28 个外显子, 其转录的 mRNA (NM 004998.3) 含 5125 个核苷酸, 编码的蛋白 myosin 1e (NP 004989.2) 由 1108 个氨基酸组成。myosin 1e 属肌球蛋白 I 家族,

广泛表达在全身各组织，在肾脏组织的足细胞骨架处高表达，纤维型肌动蛋白（F-actin）和其结合蛋白以及肌球蛋白（myosin）三者共同构成化学机械系统，利用细胞化学能产生机械运动。主要功能为参与胞吞、维持细胞膜性结构张力、参与细胞信号传导等基于 F-actin 的细胞活动^[24, 25]。*MYO1E* 基因突变导致足细胞 myosin 1e 的分布改变，出现基底膜变薄、足突融合、小管损伤的表现，产生蛋白尿，蛋白尿的程度取决于肾小球滤过屏障的损伤程度，肾脏病理表现为 FSGS，遗传方式属常染色体隐性遗传^[26]。*MYO1E* 突变导致的 FSGS 对糖皮质激素抵抗，可快速进展至 ESRD。

MHY9 基因（NG 007535.1）位于人类 21q13.1 上，含有 41 个外显子，其转录的 mRNA（NM 002473.5）含 7554 个核苷酸，编码的 myosin 9 蛋白（NP 002464）由 1960 个氨基酸组成。与 myosin 1e 一样，myosin 9 也是一种非肌源性肌球蛋白，功能为维持细胞形态、参与细胞质分裂和细胞运动等过程。*MHY9* 基因突变会导致常染色体显性遗传的非综合征型耳聋、Epstein 综合征、Alport 综合征伴巨血小板减少症、Sebastian 综合征、巨血小板减少症伴进展性耳聋^[27]。研究表明，*MHY9* 基因是 FSGS 的主要风险因素，并伴高血压，可迅速进展为 ESRD^[28]。

SYNPO 基因（NG 013356.2）位于人类 5 号染色体 q33.1，由 10 个外显子组成，其转录的 mRNA（NM 001109974.2）含 4617 个核苷酸，编码的 synaptopodin 蛋白（NP 001103444.1）由 685 个氨基酸组成，是一种肌动蛋白微丝偶联相关蛋白，分子量为 73.7kDa，在体内表达于肾小球足细胞和后脑突触内，其功能与足细胞的足突活动有关^[29]。当肾小球中出现异常增殖的足细胞时，synaptopodin 的表达消失，这表明 synaptopodin 与足细胞的分化增殖功能相关，synaptopodin 被认为是足细胞分化成熟的特异性标志物^[30]。*SYNPO* 基因突变可以导致 FSGS^[31]，具体的遗传方式尚不明确。有研究表明在儿童孤立性 NS 患者中监测 synaptopodin 水平可以评估足细胞改变和治疗效果^[32, 33]。

APOL1 基因（NG 023228.1）位于人类 22q13.1，一共含有 8 个外显子，其转录的 mRNA（NM 001136540.1）含 2924 个核苷酸，编码的蛋白 APOL1（NP 001130012.1）由 398 个氨基酸组成。APOL1 是一种能结合分泌型高密度脂蛋白（high density lipoprotein, HDL）的载脂蛋白（apolipoprotein）L-I，载脂蛋白 L-I 在血浆中含量丰富，是 HDL 最主要的载体蛋白，在脂质交换和转运中发挥着

重要作用。Genovese 等^[34]的研究表明, *APOL1* 基因突变与非洲裔美国人因 FSGS 和高血压引起的 ESRD 相关。这可能与非洲人群血清中存在的锥形虫细胞溶解素有关, 欧洲人则没有易感性^[35]。*APOL1* 突变能通过破坏溶酶体膜的通透性而增加足细胞发生坏死的风险^[36, 37]。*APOL1* 突变引起的 FSGS 为可为常染色体隐性遗传, 也可能是复杂的遗传方式。常在成人期发病。

NXF5 基因(NG 009851.1)位于人类 X 染色体 q22 上, 由 21 个外显子组成, 其转录的 mRNA (NM 032946.2) 含 1613 个核苷酸, 编码的核 RNA 输出因子 5 (nuclear RNA export factor 5) 蛋白 (NP 116564.2) 由 356 个氨基酸组成。该蛋白在肾脏、胰腺、肺、脑等多处器官表达, 能结合 RNA, 将其转运出细胞核, 在心脏中低表达, 在肌肉中几乎不表达。*NXF5* 基因突变能导致家族性 FSGS 伴共分离的心脏传到阻滞, 其遗传方式为 X 连锁隐性遗传。肾脏病理可见肾小球全部或局部硬化损伤^[38]。

PAX2 基因 (NG 013356.2) 位于人类 10q24, 长约 70kb, 一共含 13 个外显子, 其转录的 mRNA (NM 000278.3) 含 4054 个核苷酸, 编码的蛋白 paired box protein-2 (NP 000269.2) 由 393 个氨基酸组成, 在进化过程中具有高度保守性, 是一种转录因子, 在肾脏、输尿管的原始细胞、眼、耳和中枢神经系统中表达。*PAX2* 基因最主要的特点是保守的 DNA 结合配对盒区域。*PAX2* 基因是肿瘤抑制基因 *WT1* 发挥转录抑制作用的靶向基因之一^[39]。在发育过程中的肾脏, 由输尿管芽来源的肾发生过程中伴有 *PAX2* 基因的表达升高, 这是 *WT1* 基因表达升高的作用结果^[40]。*PAX2* 基因突变可通过影响结合到 DNA 配对盒区域的正确性、改变转录活性与蛋白间的相互作用、增强阻遏蛋白功能对基因本来的正常生理功能产生抑制。*PAX2* 基因突变可导致成人型 FSGS, 无肾外表现, 呈常染色体显性遗传^[41]。由于 *PAX2* 基因表达的特殊性, 即表达于泌尿系统的原始细胞, 其变异的表型谱得到了扩大, 不仅仅局限于肾脏和尿道的先天性畸形, 还可能出现其他部位异常, 如 Papillorrenal 综合征有小眼球的表现。

WDR73 基因 (NG 042034.1) 位于人类 15q25.2, 一共含有 9 个外显子, 其转录的 mRNA (NM 032856.3) 含 3195 个核苷酸, 编码的 WDR73 蛋白 (WD repeat-containing protein 73) (NP 116245.2) 由 378 个氨基酸组成, WDR73 蛋白包含多个由 40-60 个氨基酸组成的 WD40 重复序列, 这些重复序列以色氨酸(W)

-天冬氨酸（D）结尾。该蛋白在细胞分裂间期时定位于胞浆中，在有丝分裂期，聚集到纺锤体极和星状微管。敲除 *WDR73* 基因不影响培养的足细胞分化，但是影响细胞核周围微管聚集和密度，*WDR73* 基因表达异常时会出现细胞大小和形态异常。*WDR73* 突变与 Galloway-Mowat 综合征相关^[42]，该病是一种累及多系统的疾病，对中枢神经系统和肾脏的影响较多，临床多表现为 NS 伴精神运动发育落后，3 岁以内发病，还可伴有特殊面容、小头畸形、听力视力障碍及骨骼发育异常^[43]。神经系统表现为小脑发育不全、皮质萎缩、脑白质软化、髓鞘发育不良、巨脑回等，影像学上的表现具有多样性^[44]。肾脏病理表现多为局灶型肾小球硬化，还可表现为微小病变、系膜溶解和弥漫性系膜硬化，对激素耐药，最终进展为肾衰竭。遗传方式为常染色体隐性。

ARHGAP24 基因位于人类 4q22.1，一共含有 15 个外显子，其转录的 mRNA（NM 001025616.2）含 4644 个核苷酸，编码的 ARHGAP24（rho GTPase-activating protein 24）蛋白（NP 001020787.2）由 748 个氨基酸组成。ARHGAP24 蛋白定位于肾小球滤过屏障中足细胞的细胞骨架上，精细调节着足细胞上 Rho 和 Rac 1 信号通路的平衡，在维持细胞形态和细胞骨架组成中发挥着重要作用^[45, 46]。

ARHGAP24 基因突变时，足细胞上 Rho 和 Rac 1 信号通路失去平衡，细胞骨架成分被破坏，导致足细胞损伤甚至细胞数目减少，出现 FSGS^[45]，可表现为家族性，儿童期和成人期均可发病，最终进展为 ESRD 甚至死亡。呈常染色体显性遗传。

ARHGDIA 基因（NG 034210.1）位于人类 17q25.3，共含有 7 个外显子，其转录的 mRNA（NM 001185077.2）含 2150 个核苷酸，编码的 ARHGDIA（rho GDP-dissociation inhibitor）蛋白（NP 001172006.1）由 204 个氨基酸组成，ARHGDIA 蛋白表达在肾小球足细胞骨架中，在 rho GDP（鸟嘌呤二磷酸）酶介导的信号通路中发挥调节作用，能抑制 rho 家族成员的 GDP 解离，保持其处于非活化状态。ARHGDIA 蛋白的活化在许多细胞生理过程如细胞增殖和迁移等中发挥着作用。*ARHGDIA* 基因变异时，ARHGDIA 蛋白功能缺失，rho GDP 酶活性降低，rho GTP 酶活性升高，失去平衡，细胞动力受损，足细胞骨架被扰乱，在出生较早时间内可以导致严重的 NS，并迅速进展至肾功能衰竭，甚至死亡^[47, 48]。肾脏病理表现为弥漫性系膜硬化。遗传方式为常染色体显性遗传。

ANLN 基因 (NG 041770.1) 位于人类 7 号染色体 p15-p14 上, 一共含有 25 个外显子, 其转录的 mRNA (NM 001284301.2) 含 4693 个核苷酸, 编码的 anillin 蛋白 (NP 001271230.1) 由 1087 个氨基酸组成, 该蛋白在细胞间期富集于细胞核内, 少数分布在胞质和皮层; 在有丝分裂时, 聚集在皮层; 在胞质分离时又聚集在卵裂沟; 在分裂末期在中间体周围。在肾脏, anillin 在肾小管处广泛表达, 在足细胞表达很少。其功能是作为肌动蛋白的结合蛋白, 在细胞发生增殖、迁移和胞质分离时发挥作用。*ANLN* 基因变异时, 编码的 anillin 蛋白表达下降, 导致与裂孔隔膜相关的铰链蛋白 CD2AP 结合减少, 出现足细胞肌动蛋白不能正常聚合和解离的现象, 进一步破坏细胞骨架的完整性, 导致足突发生融合, 肾小球滤过功能发生异常, 表现出蛋白尿, *ANLN* 基因突变引起的 NS 为常染色体显性遗传, 肾脏病理表现为 FSGS^[49]。

EMP2 基因 (NG 013356.2) 位于人类 16p13.2, 一共含有 6 个外显子, 其转录的 mRNA (NM 001424) 含 5220 个核苷酸, 编码的 EMP2 (epithelial membrane protein 2) 蛋白 (NP 001415) 由 167 个氨基酸组成。EMP2 蛋白定位于肾小球滤过屏障中足细胞的细胞骨架上, 是细胞膜的组成成分, 在细胞内吞、信号转导、细胞增殖、迁移、粘附、死亡等功能中发挥着重要作用^[50]。*EMP2* 基因突变会导致常染色体隐性遗传的 NS, 常在儿童期起病, 与其他基因引起的 NS 不同, *EMP2* 基因突变导致的是 SSNS, 这一研究改变了以往人们对 SSNS 病因的认识^[51]。

GPC5 基因 (NG 009370.1) 位于人类 13q32 上, 含有 13 个外显子, 其转录的 mRNA (NM 004466.5) 含 1923 个核苷酸, 编码的 glypican-5 蛋白 (NP 004457.1) 由 174 个氨基酸组成。glypican-5 属于 glypican 家族成员^[52], 是膜相关蛋白的核心组成部分, 在细胞分裂和生长调控中起重要作用。全基因组关联分析

(genome-wide association study, GWAS) 表明, 在 NS 患者足细胞中出现了 glypican-5 过表达, 下调肾病小鼠模型的足细胞中该基因的表达, 可以对抗足细胞损伤, 这说明 *GPC5* 基因突变是 NS 的易感因素, 暗示 glypican-5 可能是肾小球疾病中减少足细胞损伤的新的治疗靶点^[53]。

PODXL 基因 (NG 013356.2) 位于人类 7q32-q33, 由 9 个外显子组成, 其转录的 mRNA (NM 001018111.2) 含 6007 个核苷酸, 编码的 podocalyxin 蛋白 (NP 001018121.1) 由 558 个氨基酸组成。podocalyxin 蛋白为一种带负电荷的唾液酸

Degree papers are in the “[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)”.

Fulltexts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.